



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL**

Efecto del Nitrofoska verde y Suero de Leche como Medios de Cultivo en la Producción de Biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, en fotobiorreactor de tanque agitado.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

Ingeniero Agroindustrial

**AUTOR:**

Gerson Moisés Díaz Aponte (ORCID: 0000-0001-9701-2339)

**ASESORA:**

Mg. Sandra Pagador Flores (ORCID: 0000-0001-6371-7138)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

Biotecnología

**TRUJILLO – PERÚ**

**2019**

## **Dedicatoria**

A Dios por regalarme la vida, la salud y la  
oportunidad de ser una mejor persona.

A mis padres Ángel Daniel y Laura Teresa,  
por su ayuda incondicional y comprensión.

A mis hermanos por su constante apoyo.

## **Agradecimiento**

Al Dr. José Guillermo González Cabeza, por su constante asesoría y facilidad de materiales y equipos para el desarrollo experimental de la tesis.

A mis padres por brindarme su amor, apoyo y los medios necesarios para realizar y completar mis metas.

A mis hermanos Daniel Abner, Rosa Arletti, Manuel Jonatan, por brindarme su apoyo cuando más lo necesitaba.

A mi primo Joel David Díaz Velásquez, por su importante participación en el inicio de mi formación profesional.

Al Técnico Yony Alexander Terán Rojas, que me dio todas las facilidades para llevar a cabo la parte experimental de la presente tesis.


## Página del jurado

 <b>UCV</b> UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	<b>ACTA DE APROBACIÓN DE LA TESIS</b>	Código : F07-PP-PR-02.02 Versión : 10 Fecha : 10-06-2019 Página : 1 de 1
--	---------------------------------------	---

El Jurado encargado de evaluar la tesis presentada por don  
 (a) DÍAZ APONTE GERSON MAÍSES  
 cuyo título es: "EFECTO DEL NITROFOSKA VERDE Y SUERO DE LECHE COMO MEDIOS DE CULTIVO EN LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE SCAEVEDESMUS ACUMINATUM IMP-LBA-008 EN ESTOBIORREACTOR DE TANQUE AGITADO"

Reunido en la fecha, escuchó la sustentación y la resolución de preguntas por el estudiante, otorgándole el calificativo de: 15 (número)  
QUINCE (letras).

Trujillo (o Filial) 23 de diciembre del 2019

  
 .....  
 PRESIDENTE

  
 .....  
 SECRETARIO

  
 .....  
 VOCAL

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------

## **Declaratoria de autenticidad**


### **DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD**

**Gerson Moisés Díaz Aponte**, con D.N.I. N° 42592421, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de grados Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Agroindustrial, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, diciembre 2019

  
.....  
Gerson Moisés Díaz Aponte

## ÍNDICE

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento .....	iii
Página del jurado.....	iv
Declaratoria de autenticidad .....	v
Índice.....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT.....	viii
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II. MÉTODO .....</b>	<b>11</b>
2.1 Tipo y diseño de investigación.....	11
2.2 Operacionalización de variables .....	11
2.3 Población, muestra y muestreo .....	13
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad .....	13
2.5 Procedimiento .....	13
2.6 Método de análisis de datos .....	14
2.7 Aspectos éticos.....	14
<b>III RESULTADOS .....</b>	<b>15</b>
<b>IV DISCUSIÓN .....</b>	<b>19</b>
<b>V CONCLUSIONES .....</b>	<b>22</b>
<b>VI RECOMENDACIONES.....</b>	<b>23</b>
<b>VII REFERENCIAS.....</b>	<b>24</b>
<b>VIII ANEXOS.....</b>	<b>26</b>

## Resumen

Este trabajo tuvo por objeto determinar el efecto del Nitrofoska verde y suero de leche como medios de cultivo en la producción de Biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, en fotobiorreactor de tanque agitado.

El cultivo de las microalgas se realizó en seis fotobiorreactores, los cuales tuvieron como medio de cultivo Nitrofoska verde a concentraciones del 0,0025%, 0,005% y 0,01%; y suero de leche a concentraciones del 0.1%, 0.5% y 1.0%. La agitación se realizó mediante la inyección de aire difuso, y la radiación fue artificial, con fotoperiodo de doce horas diarias.

La mayor producción de Biomasa fue obtenida en el medio de cultivo de Nitrofoska verde a una concentración de 0,005%, con 0,8333 g/L. Asimismo se observó que las microalgas se adaptaron más rápidamente a los medios de cultivo con menor concentración de nutrientes.

**Palabras clave:** Nitrofoska verde, suero de leche, biomasa, *Scenedesmus acuminatum*, fotobiorreactor.

### **Abstract**

This study aimed to determine the effect of green Nitrofoska and whey as culture media in the production of biomass *Scenedesmus acuminatum* IMP- LBA- 008, in stirred tank bioreactor.

The cultivation of microalgae photobioreactors was conducted at six, which were as green Nitrofoska culture medium at concentrations of 0.0025 %, 0.005 % and 0.01 %; and whey at concentrations of 0.1 %, 0.5 % and 1.0 %. Stirring was performed by injecting diffused air, and radiation was artificial, with photoperiod of twelve hours a day.

The higher biomass production was obtained in the culture medium green Nitrofoska at a concentration of 0.005 % and 0.8333 g / L. It was also observed that algae quickly adapted to the culture media with lower concentration of nutrients.

**Keywords:** Green Nitrofoska, whey, biomass, *Scenedesmus acuminatum*, photobioreactor.



## I INTRODUCCIÓN

La Biotecnología de las Algas tuvo sus inicios en la II Guerra Mundial, por investigadores alemanes, quienes comenzaron el cultivo masivo de microalgas en búsqueda de lípidos y proteínas. Poco después, se realizaron cultivos en la Unión Soviética, Estados Unidos y Japón. La Biotecnología de las microalgas ha ido extendiéndose por diferentes países y continentes, y hay experiencias realizadas en Europa: Inglaterra, Alemania, Francia, España, Italia, Suecia, Noruega, Checoslovaquia, Bulgaria, URSS, Holanda, Bélgica; Asia: Israel, Kuwait, India, Singapur, Tailandia, Japón, Indonesia, Filipinas, China, Taiwan; América: EE.UU, Canadá, Brasil, Perú, Chile, Cuba; Oceanía: Australia, Nueva Zelanda, Hawaii; Africa: Egipto, Sudáfrica (Álvarez y Gallardo, 1989).

En la bahía de Tokyo se iniciaron los primeros cultivos de algas marinas, por los años 1700, sin embargo, fue recién en la década de 1950 que se empezaron a conocer con exactitud sus ciclos vitales, mejorando sustancialmente los cultivos masivos. Actualmente la Biotecnología de algas marinas macroscópicas ha sido ampliamente estudiada y desarrollada en el continente asiático, principalmente en Japón, China, Taiwan, Filipinas, entre otros (Álvarez y Gallardo, 1989).

Las microalgas habitan casi todas las masas de agua en donde encuentren las condiciones mínimas para desarrollarse; han sido consumidas desde tiempos inmemoriales, sin embargo, las investigaciones acerca de su utilización como alimento es relativamente nuevo (García *et al.*, 1993 citado por Fernández *et al.*, 2007). El cultivo de microalgas para la obtención de proteínas se realizó por los años 60, en la ciudad de Dortmund - Alemania, quienes evaluaron los contenidos en proteínas de estas algas, buscando soluciones para los problemas alimenticios. En Sudamérica, específicamente en Perú, iniciaron la producción semiindustrial de microalgas en la localidad de Sausal, provincia de Ascope, Departamento de La Libertad, en el año 1978, después de haber realizado estudios con buenos resultados acerca de la producción a gran escala de la microalga *Scenedesmus acutus var alternans* (Fernández *et al.*, 2007).

En el año de 1975, en la Universidad de Colima, México, se experimentó el valor nutricional del alga *Spirulina gertleir*, en raciones alimenticias para pollos de engorde, Mule en 1988 (citado por Fernández *et al.*, 2007) quien comprobó el contenido de

proteínas de las “cianofitas” en aguas residuales, con el propósito de aprovechar el contenido proteico en la alimentación. En la actualidad diferentes variedades de microalgas son cultivadas con fines comerciales y utilizando esta biomasa en la industria alimentaria, sobre todo en alimentos funcionales, se utilizan microalgas en panificación, yogurt y bebidas, presentando un crecimiento en Europa, Estados Unidos, China y Tailandia (Fernández *et al.*, 2007).

La producción de microalgas es de gran importancia por su contenido de carbohidratos, lípidos, vitaminas, minerales, ácidos grasos poliinsaturados (omega – 3 y omega – 6) y antioxidantes (carotenos) y ser alimentos funcionales favoreciendo a la salud, utilizándose también en la industria farmacéutica, aprovechando estas algas los nutrientes presentes en las aguas residuales. Se ha suministrado *Scenedesmus spp.* a niños con desnutrición a razón de 11 g diarios, sin presentar ningún rechazo alguno, registrándose ganancia de peso 28 g. por día, comparado a una dieta sin microalgas (Gross *et al.* 1978 citado por Álvarez y Gallardo, 1989). Asimismo, el cultivo de algas ayuda a minimizar el cambio climático, la emisión de los gases efecto invernadero (GEI) y favorecen la producción de bioenergéticos, debido a que las microalgas son excelentes captadoras de CO<sub>2</sub>; presenta la oportunidad de producir biodiesel logrando rendimiento de aceite superiores a los cultivos convencionales; eliminar el problema de la competencia por el uso de la tierra, ya que las instalaciones no se montarían en las tierras de cultivo y quedarían disponibles para la producción de alimentos.

No obstante, el cultivo de las microalgas enfrenta grandes retos para la producción de biomasa a nivel industrial y rentabilidad, debiéndose seleccionar cepas con alta producción de biomasa y lípidos, que se adapten al cultivo a gran escala; establecer programas efectivos para alcanzar máxima productividad y disminuir los costos.

Las microalgas se desarrollan espontáneamente en medios acuáticos y húmedos, abundando en forma natural, la producción industrial de biomasa se realiza en ambientes controlados en tierra firme, para asegurar el crecimiento de la variedad seleccionada de acuerdo a los fines a obtener de ella. De las más de 300 000 variedades existentes en la naturaleza, solo algunas presentan características apropiadas para la producción comercial (Torretera y Tacon, 1989).

Por otro lado, el cultivo masivo de microalgas permite controlar el área de cultivo y su rendimiento. Perfeccionando la técnica de cultivo la reproducción es mucho más rápida en comparación a la obtenida en estado natural (Torrentera y Tacon, 1989).

*Scenedesmus acuminatum* es una clorofita de organización cenobial común en aguas dulces y contaminadas por drenaje domésticos, este género se conoce desde hace más de 150 años, la forma más común son cenobios de cuatro células, con o sin espinas (Azpiroz, 1984).

*Scenedesmus spp* es una pequeña alga verde inmóvil colonial que consta de células alineadas en una placa plana. Las colonias con mayor frecuencia tienen dos o cuatro células, pero pueden tener 8, 16 o 32 rara vez y en ocasiones unicelulares. Las células suelen ser cilíndricas, pero puede ser más semilunar, ovoide o fusiforme. Normalmente, las células apicales tienen dos largas espinas de hasta 200 micras de longitud que sobresale de sus esquinas exteriores, y otras células pueden tener espinas o cerdas adicionales. Cada célula contiene una sola parietal, en forma de placa con un cloroplasto pirenoide sola. Las paredes celulares pueden ser cubiertos en bultos o reticulaciones que se ven mejor con microscopía electrónica de barrido (Trainor, 2009).

*Scenedesmus spp.* se encuentra comúnmente en el plancton de los ríos de agua dulce, lagunas y lagos, y, a veces en ambientes salobres. El género se ha encontrado a lo largo de toda América del Norte desde los tropicales hasta los climas árticos. El crecimiento puede ser denso en aguas ricas en nutrientes, pero normalmente no es considerado una molestia. Al igual que muchas otras algas, *Scenedesmus spp* es un importante productor primario y fuente de alimento para los niveles tróficos superiores (Trainor, 2009).

*Scenedesmus spp.* Es un ejemplo de un cenobio o una colonia donde se determina la forma y el número de células genéticamente en el desarrollo temprano y no cambian durante la vida del organismo. Cada célula madre puede reproducirse asexualmente para formar las células que se alinean lateralmente y se convierte en una colonia hija idéntica a la colonia madre, permanece firmemente enroscada dentro de las paredes celulares de los padres hasta que finalmente se libera a través de un descanso de la pared celular (Trainor, 2009).

Las microalgas se pueden cultivar en estanques al ambiente, que es la forma más sencilla, básicamente son estanques sin techo expuestos al aire libre. En estos cultivos se suministran nutrientes para acelerar la reproducción de las microalgas. Este sistema es económico, pero poco eficiente, no es rentable a escala industrial (Barraza et al., 2009); también se realizan cultivos en tanques en invernaderos, permitiendo controlar la temperatura y el consumo de agua, permitiendo lograr mayor reproducción y rendimiento de algas. La mayoría de empresas productoras aplican este sistema logrando el equilibrio eficiencia y costos (Barraza *et al.*, 2009).

Asimismo, se pueden cultivar microalgas en fotobiorreactores, que son conductos transparentes hechos de plástico o vidrio, aislados del exterior. Estos tubos pueden colocarse al ambiente logrando captar mayor radiación solar natural durante el día y durante la noche aprovechan la radiación artificial, logrando mejor ventaja que los estanques. Su desventaja es el mayor gasto en energía en consecuencia mayores costos. Los fotobiorreactores instalados en invernaderos transparentes, obtienen mayor temperatura del ambiente (Barraza *et al.*, 2009).

Estrada *et al.* en el 2010, determinaron que los fotobiorreactores de sistemas cerrados logran una capacidad de producción de biomasa 13 veces más que los sistemas abiertos, así mismo logran mayor recuperación de biomasa, costos menores, una alta concentración de la biomasa, el área total requerida es mucho menor y pueden instalarse en cualquier parte del país, ocupando áreas pequeñas.

Variadas técnicas se han implementado en el cultivo mono específicos (una sola variedad) y axénicos (sin contaminantes). Entre los principales métodos que se utilizan para aislar y purificar microalgas son el pipeteo capilar y el rayado de placas de agar. (Torretera y Tacon, 1989).

Los cultivos son purificados mediante resiembras clónales sucesivas y aplicando antibióticos selectivos eliminando microorganismos bacterianos no deseados evitando la contaminación del cultivo principal de micro algas (Torretera y Tacon, 1989).

Los recipientes para cultivo en laboratorio más utilizados son de materiales esterilizados como las cajas de Petri, matraces Erlenmeyer, matraces Ferenback, etc. Para cultivos a

gran escala son recomendables recipientes de plástico, madera o concreto (Torretera y Tacon, 1989).

Al momento de cultivar las micro algas, se deben tener en cuenta los factores que contribuyen en el óptimo desarrollo y que afectan las características del crecimiento (Torretera y Tacon, 1989). Entre los principales factores determinantes del cultivo a gran escala de algas están la radiación, el tiempo de retención, la turbulencia, el oxígeno disuelto y pH, carbono, el nitrógeno y fósforo, interacciones bióticas (Álvarez y Gallardo, 1989).

La radiación es de mucha importancia sobre el crecimiento masivo de las algas, resulta difícil independizar los efectos que causan la luz y temperatura. Es conocido que en invierno las siembras de algas al aire libre desarrollan menos, no determinándose si la causa es la menor iluminación o baja temperatura o en efecto ambas (Álvarez y Gallardo, 1989).

HEUSSLER en 1985 (citado por Álvarez y Gallardo, 1989) menciona que cubrir la cubeta de cultivo con un plástico transparente en época de invierno contribuía a su calentamiento, aumentando la producción de micro algas. Por tal motivo, la instalación de cultivos de algas a grande escala se realiza en las zonas más cálidas del planeta.

Por otro lado, la radiación ultravioleta tiene una influencia foto inhibidora. Este fenómeno no se presenta en cultivos masivos de algas agitados, debido a que la turbulencia ocasiona que las algas pasen períodos en zonas oscuras o con escasa luz (Álvarez y Gallardo, 1989).

La radiación intermitente estimula la producción de algas, habiéndose desarrollado sistemas sencillos generadores de turbulencia que incrementan la eficiencia fotosintética (Álvarez y Gallardo, 1989).

En cuanto al tiempo de retención idóneo es difícil de fijar, para lo cual se debe tener en cuenta la especie, el medio de cultivo, y su adaptación previa a dicho medio. Otro aspecto a tener en cuenta para determinar el tiempo de residencia es la densidad del cultivo. En medios de cultivo con densidades elevadas el auto sombreado dificulta la recepción de la luz, siendo una limitante de la producción masiva. Se puede regular la densidad celular, cambiando el tiempo de retención (Álvarez y Gallardo, 1989).

La turbulencia de la masa en los medios de cultivos es fundamental para la producción masiva de microalgas, prácticamente isotermos, con agitación constante y que se encuentren bien mezclados, la sedimentación de algas se produce aún en cultivos con escasa profundidad. Se recomienda realizar agitación artificial para generar turbulencia e impida la sedimentación, esto ayuda a mejorar la producción rotando las algas de la superficie al interior y así sucesivamente evitando la foto inhibición, beneficiándose del efecto de la radiación intermitente que mejora el rendimiento (Álvarez y Gallardo, 1989).

El oxígeno generado mediante la fotosíntesis puede alcanzar concentraciones muy elevadas que inhiban la producción del cultivo. La concentración se puede controlar agitando el cultivo, lo que acelera la liberación del oxígeno a la atmósfera (Álvarez y Gallardo, 1989).

Es muy importante controlar la concentración de oxígeno durante la noche, porque al no haber fijación de carbono las algas únicamente respiran y, debido a su alta densidad, pueden provocar situaciones de anoxia por la falta de oxígeno disuelto (Álvarez y Gallardo, 1989).

El pH es otro parámetro importante del cultivo masivo el consumo de dióxido de carbono mediante la fotosíntesis por las algas aumenta el pH del medio y desplazando el equilibrio hacia los carbonatos. Las algas no consumen carbonatos, lo que expone a situaciones que limitan su crecimiento (Álvarez y Gallardo, 1989).

El carbono es indispensable en la producción de biomasa algal, la principal fuente de carbono inorgánico es el dióxido de carbono libre disuelto en el agua. El gasto energético de para la absorción de dióxido de carbono libre es menor, porque se realiza por difusión, en comparación con el bicarbonato que se realiza por transporte activo. Por tal motivo para optimizar la producción es recomendable añadir CO<sub>2</sub>. En los cultivos masivos de microalgas en medios artificiales normalmente se suministra CO<sub>2</sub> contenido en el aire, cuyo contenido de CO<sub>2</sub> es muy bajo (0,036 % en volumen). Distintos autores recomiendan suministrar dióxido de carbono en concentraciones entre el 0.3% y el 0.5 % en volumen. Se han realizado diversos estudios acerca de la forma de proporcionar el CO<sub>2</sub> a los cultivos masivos, sin haberse propuesto aún un sistema eficiente. El modo más utilizado de inyectar CO<sub>2</sub> es mediante aire difuso en el fondo de los estanques de

cultivo, siendo muy importante controlar el tamaño de la burbuja y la concentración de CO<sub>2</sub> para evitar problemas de flotación de algas generadas por las burbujas pequeñas y narcosis por las burbujas grandes con 1% de CO<sub>2</sub> en aire, por lo tanto, la reducción de la producción (Álvarez y Gallardo, 1989).

Las algas generalmente utilizan el CO<sub>2</sub> como fuente inorgánica en el ciclo de Calvin, sin embargo, también suelen utilizar el bicarbonato, debido a que las algas producen la enzima anhidrasa carbónica, enzima que cataliza la reacción CO<sub>2</sub>—CO<sub>3</sub>H<sup>-</sup> en sistemas biológicos. Ante la falta de CO<sub>2</sub> y disponibilidad de bicarbonato, el crecimiento de las algas no se vería afectado, porque la generación de CO<sub>2</sub> es más rápido de lo que ellas necesitan y la producción de anhidrasa carbónica se incrementa cuando baja la presión parcial de CO<sub>2</sub> (Álvarez y Gallardo, 1989).

El suministro de CO<sub>2</sub> es fundamental para crecimiento masivo de micro algas en medios cultivos sintéticos. En el caso de medios de cultivos compuestos por aguas residuales, con alto contenido de materia orgánica, esta es metabolizada por las bacterias produciendo CO<sub>2</sub> necesario para las algas (Álvarez y Gallardo, 1989).

Los medios de cultivo los podemos distinguir entre sintéticos u orgánicos. Existe en el mercado gran variedad de medios de cultivos sintéticos adecuados para el crecimiento de los diferentes grupos de algas. En estos medios, la fuente nitrogenada más utilizada es el nitrato, a excepción de los cultivos masivos de micro algas en los cuales se tiene preferencia por la urea. Las algas prefieren como fuente nitrogenada al amonio sobre el nitrato, sin embargo, el suministro de amonio o nitrato desplaza el pH hacia la acidez o basicidad, respectivamente, pudiéndose utilizar urea, la cual inocua en ese sentido (Álvarez y Gallardo, 1989).

En medios de cultivo no sintético, es probable que la degradación de las proteínas presentes produzca altas cantidades de amonio y urea simultáneamente, así como otros compuestos, debido a que se utilizan como medio de cultivo aguas residuales de diferentes orígenes orgánicos. En estos casos, se debe evitar altas concentraciones de amonio y pH mayor a 8, debido a su toxicidad, frecuentes en aguas residuales (Álvarez y Gallardo, 1989).

Para prevenir dicho problema es recomendable cultivar algas que crecen de manera natural en las mismas, las cuales está adaptadas a las condiciones del medio de cultivo en comparación a las cepas provenientes de colecciones de cultivo. Se han observado que las cepas nativas tienen mayor producción que las adquiridas seleccionadas (Álvarez y Gallardo, 1989).

El fósforo, es usado en los cultivos artificiales como orto fosfato (Álvarez y Gallardo, 1989).

Uno de los medios de cultivos empleados en la presente tesis es Nitrofoska verde, nutriente foliar elaborado con insumos de buena calidad, conteniendo macro y micronutrientes muy asimilables por vía foliar. Su composición presenta nitrógeno, fósforo y potasio, magnesio, boro, cobre, hierro, manganeso, molibdeno y zinc en cantidades y proporciones perfectas como fertilizante vegetal vía foliar. Los micro elementos presentes en la formula se encuentran en forma de quelatos, favoreciendo su rápida asimilación y transporte en la planta (Anexo 1).

Asimismo, se empleó como medio de cultivo el suero de leche, producto residual de la elaboración de queso. Presenta una variedad de elementos nutricionales como lactosa, albúmina, proteínas y minerales (Anexo 2). El suero de leche tiene propiedades funcionales el cual lo hace apto para ser utilizado como alimento para la humanidad. Es habitual la utilización del suero para alimentación de animales por su alto contenido de nutrientes y vitamina B2 (riboflavina) (Judkins, 1989). Cuando el suero es arrojado al ambiente, ocasiona contaminación de impacto, afectando al sistema acuífero próximo, por su alta demanda biológica de oxígeno (DBO) cercano a los 40000 mg/L, cuando las normas para aguas residuales de lácteos indican que debe estar próximo a los 100 mg/L (Beardsley *et al.*, 1996).

El pH del suero varía de acuerdo a la variedad de queso elaborado; si el cuajado se realiza por el método de coagulación enzimática, el suero alcanza un pH entre 6.0 a 6.6, y es conocido como suero dulce, si el cuajado se realiza utilizando ácido, el suero alcanza un pH 4.3 a 4.7, y es conocido como suero ácido (Madrid, 1996).

La producción de biomasa de microalgas puede reducirse por la proliferación de parásitos en los medios de cultivos. Estos pueden ser la presencia de flagelados



incolores producido por el hongo del género *Aphelidium*, infectando las colonias de *Scenedesmus*, pudiendo eliminar toda la población del alga, para lo cual debe aplicarse un fungicida al cultivo; Infecciones del hongo *Chytridiunz* y de bacterias, para lo cual se recomienda el uso pesticidas económicos e inocuos para el cultivo, tales como karatane, antracol y maneb (distintos tiocarbamatos), los cuales inhiben el desarrollo de parásitos (Álvarez y Gallardo, 1989).

Alcanzado el estado estacionario de la producción, se suele recolectar la biomasa producida. Existen diferentes métodos de separación, sin embargo, no se ha propuesto un método eficiente, de bajo costo y de corta duración (Álvarez y Gallardo, 1989).

Los métodos más utilizados a la fecha son la filtración, que demanda mucho personal y los filtros se deben cambiar con más frecuencia; la centrifugación, es un método eficaz, pero de alto costo; y la floculación, que por ahora es el método más utilizado (Álvarez y Gallardo, 1989).

La floculación puede ser espontánea (auto floculación), que puede conseguirse mediante el aumento del pH que genera una sedimentación rápida en cultivos masivos de *Scenedesmus*; o la floculación inducida por algún agente químico (floculación química), mediante el uso de múltiples floculantes. El mayor inconveniente, sin contar el costo de la sustancia, es que no todas las sustancias pueden ser empleadas en especial cuando la biomasa será utilizada como alimento o como fertilizante. Se han probado una gran variedad de sustancias como: sulfato de aluminio, cloruro férrico, distintos poli electrolitos y quitosán. Este último es un producto de origen orgánico, asimilable y utilizado en nutrición animal o útil para la fertilización (Álvarez y Gallardo, 1989).

Una vez recuperada la biomasa, es deshidratada y secada, para luego ser comercializada o procesada. El contenido de agua de las algas puede ser mayor al 90 % de su peso total. El método más barato es el secado solar, también utilizado con las algas microscópicas. Sin embargo, aunque es más costoso, el método más empleado es el secado en hornos rotatorios y aire caliente, la parte líquida de las algas se escurre sobre unos tambores o rodillos así se va desecando paulatinamente la biomasa hasta convertirlo en fino polvillo (Álvarez y Gallardo, 1989).

En la presente investigación se planteó el siguiente problema, ¿Cuál será el efecto de los medios de cultivo a diferentes concentraciones de Nitrofoska verde y suero de leche, en la obtención de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, bajo condiciones de laboratorio, empleando fotobiorreactores tanque agitado?

Como hipótesis: El medio de cultivo tiene efecto directo en la cantidad de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008 producida.

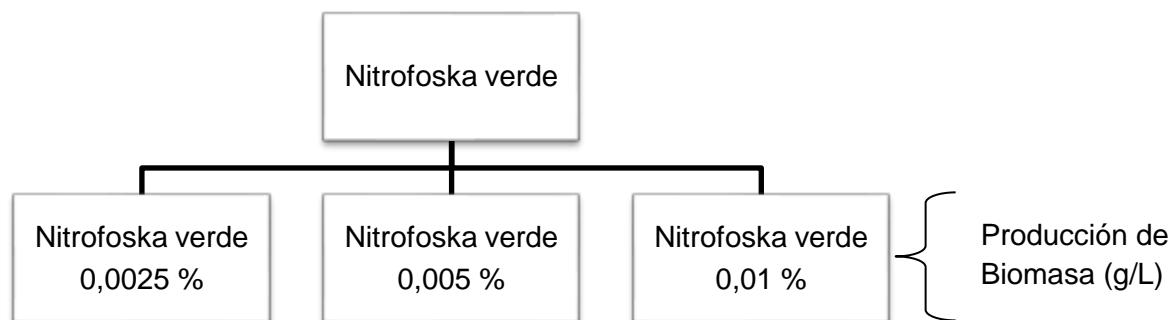
El objetivo general planteado fue: Determinar el efecto de medios de cultivo: Nitrofoska verde y suero de leche, en la producción de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008 en fotobiorreactor tanque agitado y como objetivos específicos: **a.** Determinar la producción de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, empleando suero de leche como medio de cultivo, **b.** Determinar la producción de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008 empleando Nitrofoska verde como medio de cultivo, **c.** Comparar y determinar la concentración del medio de cultivo que permita obtener la mayor producción de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008.

## II. MÉTODO

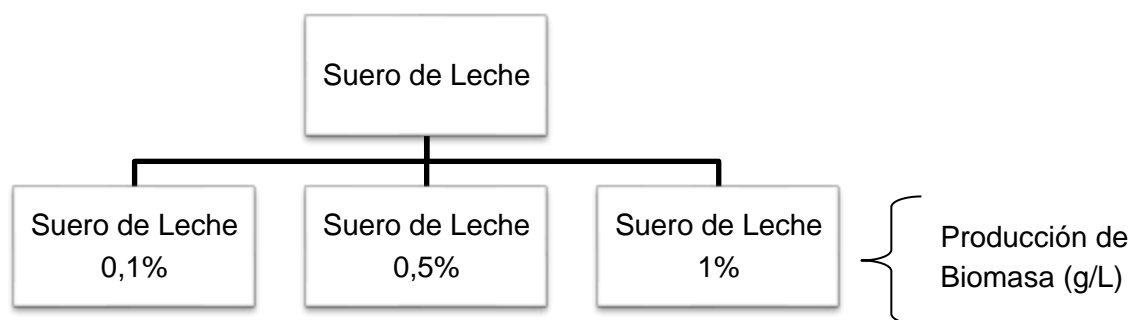
### 2.1. Tipo y diseño de investigación

Tipo de Estudio: Aplicado

Diseño de Estudio: Experimental.



**Figura 1.** Esquema experimental donde se evaluó la producción de biomasa en los medios de cultivo con Nitrofoska verde a tres concentraciones diferentes.



**Figura 2.** Esquema experimental donde se evaluó la producción de biomasa en los medios de cultivo con suero de leche a tres concentraciones diferentes.

### Variables

Variable Independiente: Medio de Cultivo

Variable Dependiente: Producción de Biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008.

### 2.2. Operacionalización de variables

En la Tabla 1 se muestra la operacionalización de la variable independiente, y la variable dependiente.

**Tabla 1. Operacionalización de variables**

<b>Variable</b>	<b>Definición Conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Tipo de variable</b>
<b>Variable Independiente.</b> - Medio de Cultivo.	<b>Medio de Cultivo.-</b> Material nutritivo que contiene los requerimientos necesarios para el crecimiento de los microorganismos.	Se utilizaron los medios de cultivos a tres concentraciones diferentes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nitrofoska verde a concentraciones: N1= 0,025 g/L N2=0,05 g/L N3= 0,1 g/L</li> <li>• Suero de Leche a concentraciones S1= 1 mL/L S2=5 mL/L S3= 10 mL/L</li> </ul>	Razón
<b>Variable Dependiente.-</b> Producción de Biomasa de <i>Scenedesmus acuminatum</i> IMP-LBA-008.	<b>Producción de Biomasa.-</b> Es un proceso de producción de materia orgánica, llevados a cabo en biorreactores y expresada en peso por unidad de área o de volumen.	La producción se medirá determinando el peso seco por litro de cada uno de los medios de cultivos empleados	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gramos de <i>Scenedesmus acuminatum</i> IMP-LBA-008, por litro de suero de leche como medio de cultivo.</li> <li>• Gramos de <i>Scenedesmus acuminatum</i> IMP-LBA-00, por litro de medio de cultivo de Nitrofoska verde.</li> </ul>	Razón

### **2.3. Población, muestra y muestreo**

#### **Población**

Está constituido por todas las algas del género de *Scendesmus Acuminatum* IMP-LBA-008

#### **Muestra**

Algas del género de *Scendesmus Acuminatum* IMP-LBA-008, aisladas por personal del IMARPE (Instituto del Mar del Perú).

#### **Muestreo**

Cantidad de Algas del género de *Scendesmus Acuminatum* IMP-LBA-008, producidas a nivel de laboratorio.

### **2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad**

Técnica de recolección de datos: La Observación en Laboratorio.

Instrumento de recolección de datos: Libreta de Registro de Datos (Anexo 8).

### **5.5. Procedimiento**

El cultivo se realizó en seis fotobiorreactores de 4 L., los cuales tuvieron tres litros de solución nutritiva de Nitrofoska verde o suero de leche a diferentes concentraciones, con las microalgas del género *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008 (Anexo 3, Anexo 4).

La turbulencia se generó mediante burbujeo de aire de 0.8 - 1mm de diámetro, con un flujo de 350 mL por minuto aproximadamente, e introducidos al fotobiorreactor a través de una manguerilla y una piedra difusora en el extremo terminal, la cual estuvo conectada a un motor de aireado (Anexo 3).

La radiación fue de tipo artificial, empleando para ello fluorescentes, y expuestos los fotobiorreactores a un fotoperiodo de 12 horas por día, la temperatura promedio fue de  $25 \pm 2$  °C, en el día, y de  $19 \pm 2$  °C por las noches.

Se empleó un inóculo inicial de 10 mL de cultivo puro de microalga, con una carga microbiana de  $5.75 \times 10^4$  UFC/mL.

#### **Evaluación del crecimiento celular**

Para seguir el crecimiento celular se realizaron conteos diarios de las seis muestras, mediante la observación al microscopio mediante el empleo de la cámara de Neubauer (Anexo 5).

#### **Obtención de la Biomasa**

La biomasa fue recuperada mediante centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos (Anexo 6).

## **Secado de la Biomasa y pesado**

El secado de la microalga *Scenedesmus acuminatum*. IMP-LBA-008 (Recuperada después del proceso de centrifugación) fue secada en una estufa a 60 °C por un tiempo de 20 horas, luego se obtuvo el peso seco en una balanza analítica (Anexo 7).

### **2.6. Método de análisis de datos**

Métodos de análisis de datos: Se utilizó el método de análisis de varianza (ANOVA) de un factor para comparar las muestras independientes. Comparaciones múltiples (Waller-Duncan), e utilizo para comprobar en forma más precisa las diferencias de biomasa producida en los diferentes medios de cultivo.

### **2.7. Aspectos éticos**

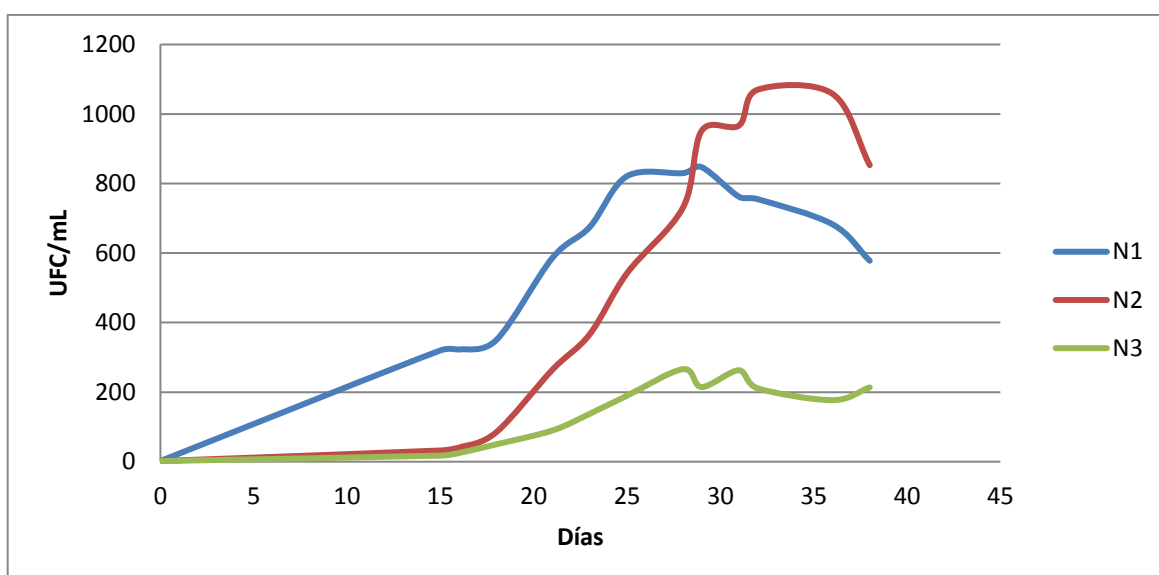
Se tubo cuidado de no perjudicar al medio ambiente, la información de autores externos fue debidamente citada, se respetó la ideología y creencias de los participantes en la presente investigación.

### III. RESULTADOS

En la Tabla 2 y Figura 3 se muestra la cinética de crecimiento de la microalga en el medio de cultivo con Nitrofoska verde, a tres concentraciones: N1 (0,0025%), N2 (0,005%) y N3 (0,01%); se observa, que hay un mayor crecimiento de las microalgas en el medio de cultivo a concentración N2 (0.005%).

**Tabla 2. Cinética de crecimiento en medios de cultivo con Nitrofoska verde**

<b>Día</b>	<b>N1 UFC/ mL</b>	<b>N2 UFC/ mL</b>	<b>N3 UFC/ mL</b>
0	$1,92 \times 10^4$	$1,92 \times 10^4$	$1,92 \times 10^4$
15	$320 \times 10^4$	$32,25 \times 10^4$	$17,5 \times 10^4$
16	$322,5 \times 10^4$	$40,75 \times 10^4$	$25 \times 10^4$
18	$350 \times 10^4$	$85 \times 10^4$	$50 \times 10^4$
21	$586,25 \times 10^4$	$264,5 \times 10^4$	$89,75 \times 10^4$
23	$675 \times 10^4$	$366,5 \times 10^4$	$137,75 \times 10^4$
25	$821,25 \times 10^4$	$542,25 \times 10^4$	$190 \times 10^4$
28	$830 \times 10^4$	$731,25 \times 10^4$	$266 \times 10^4$
29	$847 \times 10^4$	$952 \times 10^4$	$214,75 \times 10^4$
31	$762 \times 10^4$	$967 \times 10^4$	$263 \times 10^4$
32	$755 \times 10^4$	$1070 \times 10^4$	$211 \times 10^4$
36	$683 \times 10^4$	$1058,33 \times 10^4$	$177 \times 10^4$
38	$578 \times 10^4$	$853 \times 10^4$	$213,75 \times 10^4$

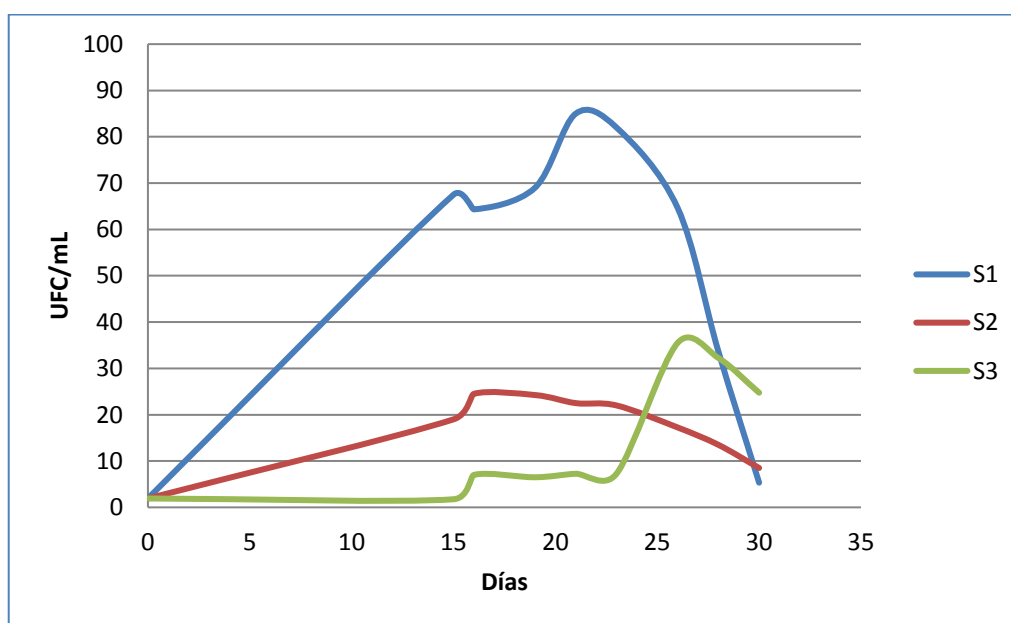


**Figura 3. Cinética de crecimiento en medios de cultivo con Nitrofoska verde**

De otro lado en la Tabla 3 y Figura 4, se muestra la cinética de crecimiento de la microalga en el medio de cultivo con suero de leche, a tres concentraciones: S1 (0,1%), S2 (0,5%) y S3 (1%); se observa, que hay un mayor crecimiento de las microalgas en el medio de cultivo a concentración S1 (0.1%).

**Tabla 3. Cinética de crecimiento en medios de cultivo con suero de leche**

	S1	S2	S3
DIA	UFC/ mL	UFC/ mL	UFC/ mL
0	$1,92 \times 10^4$	$1,92 \times 10^4$	$1,92 \times 10^4$
15	$67,5 \times 10^4$	$19 \times 10^4$	$1,75 \times 10^4$
16	$64,33 \times 10^4$	$24,5 \times 10^4$	$7 \times 10^4$
19	$69 \times 10^4$	$24,25 \times 10^4$	$6,5 \times 10^4$
21	$85 \times 10^4$	$22,5 \times 10^4$	$7,25 \times 10^4$
23	$82 \times 10^4$	$22 \times 10^4$	$7,25 \times 10^4$
26	$64,66 \times 10^4$	$17,25 \times 10^4$	$35,5 \times 10^4$
28	$33,67 \times 10^4$	$13,5 \times 10^4$	$32,25 \times 10^4$
30	$5,33 \times 10^4$	$8,5 \times 10^4$	$24,75 \times 10^4$



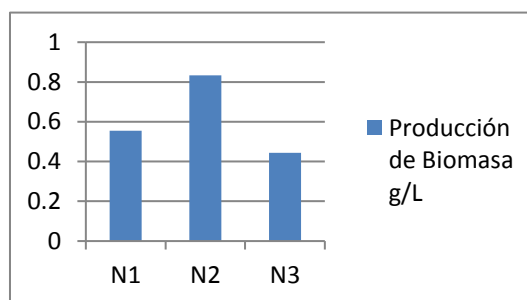
**Figura 4. Cinética de crecimiento en medios de cultivo con suero de leche**



En la Tabla 4 y Figura 5, se muestra la producción de biomasa en el medio de cultivo con Nitrofoska verde, a las tres concentraciones evaluadas: N1 (0,0025%), N2 (0,005%) y N3 (0,01%), se observa que la mayor producción de biomasa fue de 0,83 g/L, en el medio de cultivo Nitrofoska verde a la concentración N2 (0,005%); a los 36 días de cultivo.

**Tabla 4.** Producción de biomasa en medios de cultivo con Nitrofoska verde.

Medios de Cultivo	Producción de Biomasa g/L
N1	0,55
N2	0,83
N3	0,44

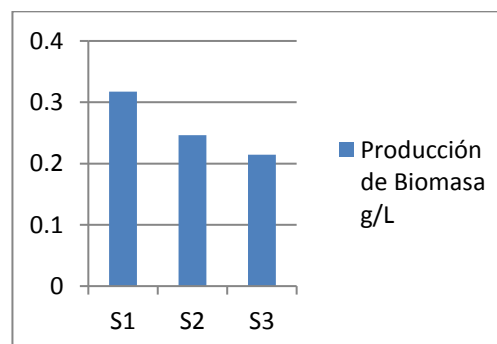


**Figura 5.-** Producción de biomasa en medios de cultivo con Nitrofoska verde.

En la Tabla 5 y Figura 6, se muestra la producción de biomasa en el medio de cultivo con suero de leche, a las tres concentraciones evaluadas: S1 (0.1%), S2 (0.5%) y S3 (1%), se observa que la mayor producción de biomasa fue de 0,32 g/L, en el medio de cultivo a la concentración S1 (0,1%) a los 30 días de cultivo.

**Tabla 5.** Producción de biomasa en medios de cultivo con suero de leche.

Medios de Cultivo	Producción de Biomasa g/L
S1	0,32
S2	0,25
S3	0,21



**Figura 6.-** Producción de biomasa en medios de cultivo con suero de leche.

En la tabla 6, se muestra el resumen del procedimiento ANOVA de un factor aplicado a la producción de biomasa en los medios de cultivo Nitrofoska verde y suero de leche a tres concentraciones, observándose efecto significativo del medio de cultivo en la cantidad de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008 producida, lo que demuestra que la biomasa obtenida en los diferentes medios de cultivo, no poseen la misma producción media.

**Tabla 6. Resumen del procedimiento ANOVA de un factor**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,814	5	0,163	517,653	0,000
Intra-grupos	0,004	12	0,000		
Total	0,818	17			

En la tabla 7, se muestra los resultados de la aplicación de la prueba de Duncan, observamos que la mayor producción de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, se obtuvo en el medio de cultivo N2 con 0,83 g/L, seguido por el medio de cultivo N1 con 0,55 g/L.; en contraste la menor producción de biomasa se obtuvo en los medios de cultivos S3 y S2, con 0,21 g/L y 0,25 g/L respectivamente, asimismo podemos afirmar que no hay diferencia significativa en las medias de los medios de cultivo S3 y S2.

**Tabla 7. Comparaciones múltiples (Waller-Duncan) del procedimiento ANOVA de un factor**

Medios de Cultivo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
S3	3	0,21				
S2	3	0,25				
S1	3		0,32			
N3	3			0,44		
N1	3				0,56	
N2	3					0,83

#### IV. DISCUSIÓN

La producción de biomasa obtenida en las diferentes concentraciones utilizando Nitrofoska verde como medio de cultivo, fueron de: N1 (0,56 g/L), N2 (0,83 g/L) y N3 (0,447 g/L), en comparación con los resultados obtenidos por Quevedo et al. (2008), quien cultivó *Scenedesmus sp.* en tres medios diferentes, utilizando como fuente de carbono bicarbonato de sodio, con una producción de: Estándar 1 (0,317 g/L), Estándar 2 (0,408 g/L) y Algal (0,195 g/L), fueron mayores, a pesar de no haber utilizado una fuente de carbonada, lo que demuestra la buena adaptación de las microalgas en medios de cultivo con Nitrofoska verde. Asimismo, la producción de biomasa en el medio de cultivo con suero de leche S1 con una producción de 0,32 g/L, en comparación con las producidas por Quevedo et al. (2008), fue similar a la producción del medio de cultivo Estándar 1, menor que el medio de cultivo Estándar 2, y mayor que el Algal, sin embargo, la cantidad de biomasa alcanzada con los medios de cultivo S2 (0,25 g/L) y S3 (0,21 g/L) sólo fueron mayores a la producción del cultivo Algal.

En contraste, la cantidad producida de biomasa en todos los medios de cultivo, fueron menores a las alcanzadas por Greque y Vieira (2007), citado por Quevedo et al. (2008), quienes obtuvieron 1,800 g/L, de *Scenedesmus obliquus*, cultivado en fotobiorreactores, suministrándole CO<sub>2</sub> constantemente. Esto puede deberse a que aproximadamente el 50 % de la biomasa de las microalgas está compuesta de carbono (Benavente et al., 2012), y es muy importante en el desarrollo celular. En cultivos foto autotróficamente, las microalgas para sintetizar compuestos utilizan fuentes inorgánicas de carbono.

Las microalgas tienen la capacidad de hacer uso del carbono inorgánico en distintas formas (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Y CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>), sin embargo, investigaciones realizadas indican que, pese a que el HCO<sub>3</sub> es sencillamente asimilable por las células, la cantidad presente es muy poca en comparación con el CO<sub>2</sub> del ambiente (Benavente et al., 2012). Es viable establecer una relación directamente proporcional entre la masa de carbono consumida y la biomasa producida (con una certeza aproximada al cien por ciento), esto sólo es posible con flujos controlado de dióxido de carbono y niveles estrechos de pH. En los cultivares de microalgas se utiliza aire enriquecido con CO<sub>2</sub> como aportación nutricional (Benavente et al., 2012).

En los medios de cultivos con Nitrofoska verde (N1, N2, N3), se observó que la coloración verde oscuro era más intensa en los cultivos con mayor concentración de nutrientes, esto puede deberse a que la concentración de nitrógeno establece en gran medida la cuantía de clorofila sintetizada (González, 2010).

Por otro lado, la recuperación de la biomasa fue realizada por centrifugación, donde se presentaron problemas, puesto que el equipo era muy pequeño, teniéndose que centrifugar repetidas veces para obtener una cantidad apreciable de biomasa. Si bien la centrifugación es el método más eficaz en la recuperación de biomasa, es el método más oneroso; existen otros métodos, que no son muy idóneos, tanto por su ineficacia, tiempo de proceso o por su costo (Álvarez y Gallardo, 1989).

También se pudo observar que las microalgas *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, se adaptaron más rápido en los medios de cultivo con menor concentración de nutrientes, llegando en menor tiempo a su fase exponencial y estacionaria. El crecimiento exponencial se dio luego de la formación de biofilm en la parte inferior del fotobiorreactor.

Asimismo, se pudo determinar que los cultivos realizados con Nitrofoska verde, fueron muy superiores en todos los aspectos a los realizados con suero de leche, debido probablemente a que en su composición contiene nitrógeno nítrico, amónico y ureico; siendo el amonio o nitratos las principales formas de nitrógeno que usan las microalgas, aun cuando la mayoría logra utilizar también nitritos, urea y otras formas de nitrógeno orgánico. El nitrógeno es admitido en las rutas metabólicas de las microalgas en forma de amonio, mientras que la digestión de nitrato requiere de la transformación de nitrato a nitrito y luego a amonio mediante cuatro caminos de reducción que requieren energía, resultando más propicio para las algas utilizar el amonio cuando éste está disponible (González, 2010).

La temperatura de crecimiento fue ambiental ( $25 \pm 2$  °C, en el día, y de  $19 \pm 2$  °C por la noche), por lo tanto, el crecimiento en los distintos tipos de medio de cultivo algal pudieron tener mayor crecimiento ya que las condiciones físicas del ambiente afectan las actividades metabólicas de los microorganismos. La temperatura del medio es uno de los componentes más trascendentales por el resultado que tiene sobre el desarrollo y la sobrevivencia, la temperatura celular se iguala a la temperatura del medio de cultivo.

La temperatura es transcendental en separación de las moléculas de carbono, haciéndolo utilizable en la fotosíntesis (Benavente et al., 2012). Las cepas del género *Scenedesmus* tienen mayor tasa de crecimiento en temperatura de 32 °C, esto se debe a que la tasa de crecimiento y la productividad de *Scenedesmus* se incrementan exponencialmente con la temperatura a partir de los 10 °C hasta la temperatura óptima. Por ejemplo, *Scenedesmus obliquus* es una microalga mesofílica con una temperatura óptima de 31 a 32 °C y una temperatura máxima de 34 a 36 °C, a la cual cesa el crecimiento (Soeder y Hegewald, 1988).

El pH de los medios de cultivo con Nitrofoska verde fue de 7, y en los medios de cultivo con suero de leche fue de: S3 (6.5), S2 (6.8) y S1 (7). Algunos autores concuerdan que el pH óptimo para el crecimiento de las microalgas es de 7.5 (Benavente *et al.*, 2012). Sin embargo, el pH aumenta conforme la edad del cultivo, producido por la reserva de minerales y oxidación de los nutrientes. Por esta razón, se recomienda ajustar el pH a inicio del cultivo a 6.5 previamente a ser inoculado (Benavente *et al.*, 2012).

## V. CONCLUSIONES

La producción de biomasa en los medios de cultivo con Nitrofoska verde y suero de leche, a tres concentraciones presentaron efecto significativo en la producción de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008.

La mayor producción de biomasa fue de 0,83 g/L, en el medio de cultivo Nitrofoska verde a la concentración de 0.05% y de 0,3174 g/L; en el medio de cultivo suero de leche a la concentración de 0.1%.

## **VI. RECOMENDACIONES**

Realizar estudios de la producción de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, obtenidas en medios de cultivo: Nitrofoska verde enriquecido con suero de leche.

Realizar estudios de la producción de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, obtenidas en medios de cultivo: Nitrofoska verde agregando bicarbonato de sodio como fuente carbonatada.

Realizar estudios de la producción de biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, obtenidas en medios de cultivo: Nitrofoska® verde al 1%, agregando nutrientes en la fase de crecimiento exponencial.

## VII. REFERENCIAS

- GALLARDO, Tomás; COBELAS, Miguel Álvarez. Una Revisión sobre la Biotecnología de las Algas. *Botanica complutensis*, 1989, vol. 15, p. 9.
- BLANCO, C. G., et al. Caracterización de hidrocarburos en sedimentos de la Ría de Laxe y su relación con el vertido del Prestige (NO de la Península Ibérica). *Ciencias Marinas*, 2006, vol. 32, no 2B, p. 429-437.
- DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA, Cámara Costarricense, et al. 50 sugerencias para una mayor eficiencia ambiental en la industria de alimentos. En *50 sugerencias para una mayor eficiencia ambiental en la industria de alimentos*. CEGESTI, 1996.
- BENAVENTE-VALDÉS, J. R., et al. Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. *Revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 2012, vol. 7, no 4, p. 1-12.
- BETETA, Miguel. Técnicas de cultivo de microalgas mediante fotobiorreactores [En línea]. CCI CAMARAS CLIMATICAS, 2009. [Fecha de consulta: 02 de diciembre del 2011]. Disponible en: <http://cci-calidad.blogspot.com/2009/08/tecnicas-de-cultivo-de-microalgas.html>
- BARRAZA, Camila [et al.]. PRODUCCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS. Chile: Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Junio 2009.
- ESTRADA, Cesar A.; NOGUERA, Yanaika C.; LOPEZ, Jorge E. Desarrollo tecnológico prototipo para la producción de biodiesel a partir de microalgas en sistemas cerrados, como biocombustible de segunda generación. En *Eighth LACCEI Latin American and Caribbean Conference for Engineering and Technology, Arequipa*. 2010.
- ANDRADE, Ricardo D., et al. Obtención de harina a partir del cultivo de *Chlorella vulgaris* y su análisis proteico. *Temas agrarios*, 2007, vol. 12, no 1.
- FRENCH, Eduardo R.; HEBERT, Teddy Theodore. *Métodos de investigación fitopatológica*. Iica, 1980.
- GONZÁLEZ GONZÁLEZ, Lina María, et al. *Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo en las interacciones competitivas entre Chlorella vulgaris Y Scenedesmus acutus*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Colombia.



- JUDKINS, Henry F.; KEENER, Harry A. *La leche: su produccion y procesos industriales*. Compañía Editorial Continental, 1989.
- PARA, EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO. Crecimiento de *Scenedesmus sp* en diferentes medios de cultivo para la producción de proteína microalgal. 2008.
- MADRID, Antonio. Curso de industrias lácteas. *Editorial Mundi-Prensa. Madrid*, 1996.
- TORRETERA, B. L. Tacon AGJ La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. 1989. *FAO, Brasilia, Brasil*.
- TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. *Introducción a la Microbiología*. Ed. Médica Panamericana, 2007. ISBN: 978-950-06-0740-7
- TRAINOR, Francis Rice. *Biological aspects of Scenedesmus (Chlorophyceae)-phenotypic plasticity*. J. Cramer, 1998.
- SOLTAGRO. Nitrofoska® Verde [En línea]. SOLTAGRO [Fecha de consulta: 12 de julio del 2015].  
Disponible en: [http://soltagro.com/pdf/nitrofoskaverde\\_ft.pdf](http://soltagro.com/pdf/nitrofoskaverde_ft.pdf)

## **VIII. ANEXOS**

### **ANEXO 1**

**Nitrofoska Verde 25 – 10 – 17.5 + 1.6 + E. M.**

Fertilizante complejo en polvo, para la fertilización foliar de cultivos intensivos de campo y ornamentales, también recomendado para la fertilización a través del sistema de riego.

#### **Datos técnicos**

##### **Características químicas**

##### **Nutrientes principales:**

25.0 % Nitrógeno total (N)

4.9 % nitrógeno nítrico ( $\text{NO}_3\text{-N}$ )

2.9 % nitrógeno amónico ( $\text{NH}_4\text{-N}$ )

17.2 % nitrógeno ureico ( $\text{NH}_2\text{-N}$ )

10.0 % Fósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ )

17.5 % Potasio ( $\text{K}_2\text{O}$ )

##### **Nutrientes secundarios:**

1.6 % Magnesio ( $\text{MgO}$ )

13.0 % Azufre (S)

##### **Micronutrientes:**

320 ppm Manganeso\* (Mn)

500 ppm Hierro\* (Fe)

160 ppm Cobre\* (Cu)

150 ppm Boro (B)

100 ppm Cinc\* (Zn)

10 ppm Molibdeno (Mo)

\* Completamente quelatizado con EDTA

##### **Características físicas:**

Sal cristalina fino

##### **Color:**

Verde claro

##### **Densidad aparente:**

Aprox.  $760 \text{ kg/m}^3$

##### **Diámetro de las partículas:**

0,1 - 1,4 mm (80 – 90 %)

## ANEXO 2

**Tabla 8. Composición General del suero lácteo**

Constituyente	Suero	
	Dulce %	Ácido %
Agua	93 -94	94 – 95
Grasa	0.2 – 0.7	0.04
Proteínas	0.8 – 1.0	0.8 – 1.0
Carbohidratos (lactosa)	4.5 – 5.0	4.5 – 5.0
Cenizas	0.05	0.40
Sólidos Totales	5.6 – 6.8	5.7 – 6.4

Fuente: Madrid, 1996

## ANEXO 3

### **Construcción del fotobiorreactor.**

#### **Material y aparatos**

1. Reloj Eléctrico
2. Manguera para pecera
3. Piedra difusora
4. Motor de aire
5. Carbonato de sodio
6. Baldes de 3L
7. Extensión de electricidad
8. Socket de luz
9. Enchufe eléctrico
10. Cable mellizo
11. Fluorescente de 18w

#### **Procedimiento**

Se realizó dos agujeros en la tapa de la botella de 200 mL donde se ingresaron dos mangueras, una se conectó al motor de aire, y la otra manguera se instaló dentro de los baldes conectada con una piedra difusora en su parte final.

Se preparó una solución de 100 mL de carbonato de sodio al 30%, dentro de la botella de 200 mL que sirvió para filtrar el aire.

Se instaló una lámpara fluorescente utilizando el enchufe, cable mellizo, socket y el fluorescente, se enchufó en un reloj eléctrico que sirvió para controlar el fotoperiodo de 12 horas/día.



## ANEXO 4

### Preparación de los medios de cultivo

Se prepararon los medios de cultivos (ver Anexo2) a diferentes concentraciones.

### Material y aparatos




1. Pipeta
2. Balde transparente de 4 L.
3. Nitrofoska® verde
4. Suero de leche

### Procedimiento

En un Balde transparente de 4 L, se agregan los medios de cultivo (suero de leche (previamente filtrado), Nitrofoska® verde), luego se enrasa hasta los 3 L, se agita hasta su total homogenización

Las concentraciones de los medios de cultivo fueron las siguientes:

### Medio de cultivo con Nitrofoska® verde (N)

					
Nitrofoska verde	0,075 g	Nitrofoska verde	0,15 g	Nitrofoska verde	0,3 g
Agua	3000	Agua	3000	Agua	3000
mL		mL		mL	
pH	7	pH	7	pH	7
<b>N1 (0,0025%)</b>		<b>N2 (0,005%)</b>		<b>N3 (0,01%)</b>	

### Medio de cultivo con suero de leche (S)

					
Suero de leche	3 mL	Suero de leche	15 mL	Suero de leche	30 mL
Agua	2997 mL	Agua	2985	Agua	2970 mL
pH	7	mL		pH	6.5
<b>S1 (0,1%)</b>		<b>S2 (0,5%)</b>		<b>S3 (1%)</b>	

## ANEXO 5

### Evaluación del crecimiento celular

Se realizaron conteos diarios de las nueve muestras, mediante la observación al microscopio óptico de campo claro Olympus CX31.

### Material y aparatos

1. Pipetas
- 2 Tubo de ensayo
3. Microscopio
4. Cámara de Neubauer.
5. Laminilla de cuarzo
6. Micropipeta de 100  $\mu\text{L}$

### Procedimiento

- Se pipeteó 1 mL. de cada cultivo en un tubo de ensayo.
- Se limpió la cámara de Neubauer y la laminilla de cuarzo suavemente con alcohol.
- Se colocó la laminilla de cuarzo sobre la cámara en forma vertical, y centrada.
- Con la ayuda de una micropipeta de 100  $\mu\text{L}$ , se llenó la cámara de Neubauer.
- Se llevó la cámara de Neubauer al microscopio y se contó con el objetivo de 40X, donde se visualiza cada uno de los campos y con ayuda del carrito se desplazó por los cuadros. Se contó los cuatro cuadros de los extremos y el cuadro central.

		
Pipeteo de los medios de cultivo en tubos de ensayo.	Conteo con el objetivo de 40X.	Visualización de las microalgas.

## ANEXO 6

### Obtención de biomasa

La biomasa se recuperó por centrifugación, luego se determinó su peso húmedo.

### Material y aparatos

- |                  |               |
|------------------|---------------|
| 1. Pipetas       | 3. Centrífuga |
| 2 Tubo de ensayo |               |

### Procedimiento

- Se pipeteó 6 mL. de cada cultivo en un tubo de ensayo.
- Los tubos de ensayo con el cultivo se colocaron en la centrífuga balanceando los pesos, la centrifugación se realizó a 4000 revoluciones por un periodo de 10 minutos.
- Una vez centrifugado los tubos de ensayo fueron extraídos de la centrífuga y se eliminó el sobrenadante, recuperando las microalgas. (estos pasos se repitieron hasta centrifugar 42 mL. por cada cultivo).



## **ANEXO 7**

### **Secado de la Biomasa y pesado**

La biomasa recuperada por centrifugación (Ver Anexo 4), fue secada al horno.

#### **Material y aparatos**

1. Tubo de ensayo
2. Horno
3. Balanza analítica.

#### **Procedimiento**

Los tubos con la biomasa recuperada por centrifugación, fue secada en el horno a 60 °C por 20 horas.

Finalmente se pesó el tubo de ensayo con las microalgas secas, y por diferencia con el peso del tubo de ensayo vacío (previamente pesado), se obtuvo el peso seco.





**ANEXO 8**

**Toma de Datos**

Densidad total:        N° microalgas/mL.

Densidad total: (microalgas contadas)/dilución/0.1ml)

Medio de cultivo: .....


Fecha	Hora	N° de micro algas/cuadro cuaternario	Densidad Total N°/ml	Observaciones

## ANEXO 9

Tabla 9. Concentración salina de los medios de cultivo Estándar 1, Estándar 2 y Algal (g/L).

Componente	Estándar 1	Estándar 2	Algal
$\text{KH}_2\text{PO}_4$		0,052	
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	$1,040 \times 10^{-3}$		
$\text{KNO}_3$		1,000	
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,015	0,050	
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$			0,012
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$		0,083	
$\text{NaHCO}_3$	0,059	5,447	0,89
$\text{NaNO}_3$	0,025		0,17
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$			$2,360 \times 10^{-5}$
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,441	0,01	
Citrato Férrico			$5,310 \times 10^{-3}$
$\text{CoCl}_2$	$0,078 \times 10^{-6}$		
$\text{CoCl}_3$			$1,650 \times 10^{-5}$
$\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$		0,003	
$\text{CuCl}_2$	$0,009 \times 10^{-6}$		
$\text{CuSO}_4$			$0,016 \times 10^{-3}$
$\text{FeCl}_3$	$0,096 \times 10^{-3}$		
$\text{FeSO}_4$		0,025	
$\text{H}_3\text{BO}_3$	$0,186 \times 10^{-3}$		
$\text{KOH}$		$0,094 \times 10^{-1}$	
$\text{MgCl}_2$	$0,057 \times 10^{-1}$		
$\text{MnCl}_2$	$2,640 \times 10^{-4}$		$0,126 \times 10^{-3}$
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$		0,200	
$\text{Na}_2 - \text{EDTA}$		0,033	$2,600 \times 10^{-4}$
$\text{Na}_2 - \text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$0,003 \times 10^{-2}$		
$\text{Na}_2\text{MoO}_4$			$2,370 \times 10^{-4}$
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$7,260 \times 10^{-6}$		
$\text{NH}_4\text{VO}_3$		0,01	
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$		$0,004 \times 10^{-1}$	
$\text{ZnCl}_2$	$3,270 \times 10^{-6}$		$1,400 \times 10^{-4}$
Tiamina			$3,500 \times 10^{-5}$
Biotina			$5,000 \times 10^{-6}$

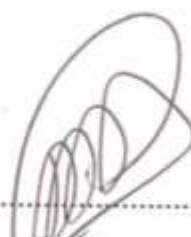
## Acta de aprobación de originalidad de tesis

 <b>UCV</b> UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	<b>ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS</b>	Código : F06-PP-PR-02.02 Versión : 10 Fecha : 10-06-2019 Página : 1 de 1
--	--	---

Yo, ANTIS JESUS CRUZ ESCOBEDO  
 docente de la Facultad DE INGENIERIA y  
 Escuela Profesional INGENIERIA AGROINDUSTRIAL de la Universidad César  
 Vallejo - TRUJILLO (precisar filial o sede), revisor (a) de la tesis titulada:  
"Efecto del Nitrogeno Verde y Ammonolisis como medio de cultivo  
 en la producción de Biomasa de Scenedesmus Acanthodes  
 IMP-LBA-008 en fotorobioreactor de Tanque Agitado"  
 del (de la) estudiante DIAZ APONTE GERSON MOISES  
 constato que la investigación tiene un índice de  
 similitud de 1.3% verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las  
 coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis  
 cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la  
 Universidad César Vallejo.

Lugar y fecha Trujillo, mayo 2020

  
 \_\_\_\_\_  
 Firma  
ANTIS JESUS CRUZ ESCOBEDO  
 Nombres y apellidos del (de la) docente  
 DNI: \_\_\_\_\_

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	-------------------------------	--------	---	--------	-----------

## Pantallazo de turnitin



 **UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA**

**AGROINDUSTRIAL**

Efecto del Nitrofoska verde y Suero de Leche como Medios de Cultivo en la Producción de Biomasa de *Scenedesmus acuminatum* IMP-LBA-008, en fotobiorreactor de tanque agitado.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

Ingeniero Agroindustrial

**AUTOR:**

Gerson Moisés Díaz Aponte (ORCID: 0000-0001-9701-2339)

**ASESORA:**

Mg. Sandra Pagador Flores (ORCID: 0000-0001-6371-7138)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

Biotecnología

**TRUJILLO - PERÚ**

**2019**

13

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

## Formulario de autorización para la publicación electrónica de la tesis



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación (CRAI)  
"César Acuña Peralta"

### FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LAS TESIS

#### 1. DATOS PERSONALES

Apellidos y Nombres: (solo los datos del que autoriza)

DIAZ APOITE GERSON MOISES  
D.N.I. : 4259.2421  
Domicilio : Jr. FRANCISCO MIRAMBA N° 1452 - LA ESPERANZA  
Teléfono : Fijo : 270959 Móvil : 948233353  
E-mail : g.mda.18@hotmail.com

#### 2. IDENTIFICACIÓN DE LA TESIS

Modalidad:

☒ Tesis de Pregrado

Facultad : INGENIERIA  
Escuela : INGENIERIA AGROINDUSTRIAL  
Carrera : INGENIERIA AGROINDUSTRIAL  
Título : INGENIERO AGROINDUSTRIAL

☐ Tesis de Post Grado

☐ Maestría

☐ Doctorado

Grado :  
Mención :

#### 3. DATOS DE LA TESIS

Autor (es) Apellidos y Nombres:

DIAZ APOITE GERSON MOISES

Título de la tesis:

Efecto del Nitrofenol Verde y Amarelo diluido como medio de cultivo en la producción de Biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* en foto bio reactor de Tanque agitado.

Año de publicación : 2020

#### 4. AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN VERSIÓN ELECTRÓNICA:

A través del presente documento, autorizo a la Biblioteca UCV-Lima Norte,  
a publicar en texto completo mi tesis.

Firma :

Fecha : 22-01-2020

## Autorización de la versión final del trabajo de investigación



# UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

### AUTORIZACIÓN DE LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CONSTE POR EL PRESENTE EL VISTO BUENO QUE OTORGA EL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN DE

la FACULTAD DE INGENIERÍA -  
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

A LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

DÍAZ APONTE, GERSON MOISES

INFORME TITULADO:

"Efecto del Nitrofosforato y del nitrato de calcio como medios de cultivo en la producción de biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* MP-LBA-008 en foto bioreactor de Tn Agitated"

PARA OBTENER EL TÍTULO O GRADO DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

SUSTENTADO EN FECHA: 23-12-19

NOTA O MENCIÓN: 15


FIRMA DEL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN